พฤกษเคมี ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ และฤทธิ์ต้านแบคทีเรียจากสารสกัดหยาบของพญาสัตบรรณ

กัณป์ธิภัศ เขียวยันต์[1] ณพัฐอร บัวฉุน[2]

Received : September 30, 2023
Revised : August 27, 2024
Accepted : March 3, 2025

บทคัดย่อ

งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาสารพฤกษเคมี ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ และฤทธิ์ต้านแบคทีเรียจากสารสกัดหยาบจากใบและดอกพญาสัตบรรณ จากการทดสอบ พบว่า สารสกัดหยาบจากใบพญาสัตบรรณมีปริมาณฟีนอลิกทั้งหมด (25.53 ± 0.52 mg GAE/g) และปริมาณฟลาโวนอยด์ทั้งหมด (18.21 ± 1.07mg QE/g) สูงกว่าสารสกัดหยาบจากดอกพญาสัตบรรณ และเมื่อทำการทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH และ ABST assay พบว่า สารสกัดหยาบจากใบพญาสัตบรรณมีฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH (EC_{50} 8.15 ± 0.27 mg/ml) และ ABTS (EC_{50} 10.09 ± 0.52 mg/ml) ได้ดีกว่าสารสกัดหยาบจากดอกพญาสัตบรรณ เมื่อเทียบกับสารมาตรฐาน BHT, BHA และ **α**-Tocopherol ส่วนการศึกษาฤทธิ์ต้านแบคทีเรียด้วยวิธี agar well diffusion ผลการทดสอบปรากฏว่า สารสกัดหยาบจากใบพญาสัตบรรณมีฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรีย *S. aureus* TISTR746 *B. cereus* TISTR1449 และ *S. typhimurium* TISTR1472 โดยมีบริเวณยับยั้งเท่ากับ 7.11 ± 1.27 มิลลิเมตร 5.89 ± 1.34 มิลลิเมตร และ 4.11 ± 1.53 มิลลิเมตร ตามลำดับ เมื่อเปรียบเทียบฤทธิ์ยับยั้งระหว่างสารสกัดหยาบจากใบและดอกพญาสัตบรรณกับยาปฏิชีวนะ (Streptomycin และ Tetracycline) ซึ่งสารสกัดหยาบจากใบและดอกพญาสัตบรรณสามารถยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียได้อย่างสมบูรณ์โดยมีค่า MIC และ MBC อยู่ระหว่าง 25 และ 50 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร จากการทดลองแสดงให้เห็นว่าใบและดอกพญาสัตบรรณสามารถเป็นแหล่งวัตถุดิบที่ดีในการค้นหาสารทุติยภูมิที่มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ นำไปใช้ในการเป็นสารประกอบในเครื่องสำอางบำรุงผิว ลดเลือนริ้วรอย และในการพัฒนาเพื่อใช้ประโยชน์ทางการแพทย์และเกษตรกรรมต่อไป

คำสำคัญ: พญาสัตบรรณ พฤกษเคมี ฤทธิ์ต้านแบคทีเรีย ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ

[1] *อาจารย์กลุ่มสาระวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี โรงเรียนสาธิตมหาวิทยาลัยราชภัฏวไลยอลงกรณ์ ในพระบรมราชูปถัมภ์ อีเมล: pattanan.khieo@vru.ac.th*

[2] *อาจารย์ประจำสาขาเคมี คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏวไลยอลงกรณ์ ในพระบรมราชูปถัมภ์ อีเมล: napattaorn@vru.ac.th*

** ผู้นิพนธ์หลัก อีเมล:* napattaorn@vru.ac.th

PHYTOCHEMICAL, ANTIOXIDANT AND ANTIBACTERIAL ACTIVITIES FROM CRUDE EXTRACTS OF *Alstonia scholaris* Linn

Kanthiphat Khieoyan[1] Napattaorn Buachoon[2*]

Abstract

The objective of this research was to investigate the phytochemical, antioxidant, and antibacterial activities of crude extracts from leaves and flowers of *Alstonia scholaris* Linn. Testing revealed that the leaf crude extract of *Alstonia scholaris* Linn. contained higher total phenolic (25.53 ± 0.52 mg GAE/g) and flavonoid (18.21 ± 1.07 mg QE/g) contents compared to the flower extract. Upon testing antioxidant activity using DPPH and ABTS assay, it was found that the leaf crude extract exhibited better antioxidant activity with DPPH (EC_{50} 8.15 ± 0.27 mg/ml) and ABTS (EC_{50} 10.09 ± 0.52 mg/ml) methods compared to the flower extract, when compared to standard substances BHT, BHA, and α-Tocopherol. The study of antibacterial activity using agar well diffusion method showed that the leaf crude extract inhibited bacteria *S. aureus* TISTR746, *B. cereus* TISTR1449, and *S. typhimurium* TISTR1472 with inhibition zones of 7.11 ± 1.27 mm, 5.89 ± 1.34 mm, and 4.11 ± 1.53 mm respectively. Comparing the inhibitory effect between the leaf and flower extracts of *Alstonia scholaris* Linn. with antibiotics (Streptomycin and Tetracycline) revealed that the extracts could significantly inhibit bacterial growth with MIC and MBC values between 25 and 50 milligrams per milliliter. The experiments indicate that leaves and flowers of *Alstonia scholaris* Linn.could be good sources of secondary metabolite with antioxidant properties, potentially useful in cosmetics for skin nourishment, wrinkle reduction, and for further development in medical and agricultural applications.

Keywords: *Alstonia scholaris* Linn, Phytochemical, Antibacterial activities, Antioxidant activities

[1] *Lecturer of Science and Technology subject group, Valaya Alongkorn Rajabhat University under the Royal Patronage Demonstration School, e-mail: pattanan.khieo@vru.ac.th*

[2] *Lecturer of Chemistry, Faculty of Science and Technology, Valaya Alongkorn Rajabhat University under the Royal Patronage, e-mail: napattaorn@vru.ac.th*

** Corresponding author, e-mail: napattaorn@vru.ac.th*

บทนำ

ปัจจุบันได้มีการนำสารสกัดจากธรรมชาติหลายชนิดมาใช้เป็นวัตถุดิบในการผลิตอาหารเพื่อสุขภาพ ผลิตภัณฑ์เสริมความงาม ตลอดจนเครื่องสำอางเนื่องจากสารสกัดจากธรรมชาติมีฤทธิ์ทางชีวภาพต่าง ๆ ใกล้เคียงกับสารสังเคราะห์แต่มีความปลอดภัยต่อการบริโภคสูงกว่า ทำให้มีความนิยมและสนใจที่จะบริโภคผลิตภัณฑ์ที่ทำมาจากธรรมชาติมากขึ้น ในพืชผักสมุนไพรที่มีอยู่ในธรรมชาติล้วนแล้วแต่เป็นแหล่งพฤกษเคมี (phytochemical) ที่สำคัญและมีฤทธิ์ทางชีวภาพมากมาย เช่น ฟีนอลิก (phenolic compound) ช่วยป้องกันการเกิดอนุมูลอิสระเนื่องจากมีความสามารถในการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชัน สามารถป้องกันโรคต่างๆที่เกิดจากภาวะ oxidative stress เช่น โรคในระบบหัวใจและหลอดเลือด มะเร็ง เบาหวาน โรคทางสมองและระบบประสาท เช่น Parkinsonและ Alzheimer เป็นต้น นอกจากนี้ยังสารสำคัญที่มีฤทธิ์ในการต้านเชื้อแบคทีเรีย เช่น แทนนิน ฟลาโวนอยด์ อัลคาลอยด์ และซาโปนิน (Winnie et al., 2019) จากการศึกษาจะพบว่า ปัจจุบันเชื้อแบคทีเรียต่างๆ มีการดื้อยาเพิ่มขึ้น ทั้งแบคทีเรียที่ก่อให้เกิดโรคทางผิวหนัง ทางเดินหายใจ รวมทั้งโรคเกี่ยวกับอาหารเป็นพิษและโรคท้องร่วง เช่น *Staphylococcus aureus* TISTR746 และ *Bacillus cereus* TISTR 1449 เป็นต้น ซึ่งเป็นแบคทีเรียก่อโรคแกรมบวก และ *Salmonella typhimurium* TISTR1472 แบคทีเรียก่อโรคแกรมลบ

พญาสัตบรรณ (*Alstonia Scholaris*) เป็นพืชในวงศ์ Apocynaceae มีชื่อเรียกภาษาไทยหลากหลายชื่อ เช่น พญาสัตบรรณ หรือตีนเป็ด เป็นพืชที่มีถิ่นที่ตั้งตั้งเดิมในประเทศจีน อินเดีย และประเทศในแถบเอเชียตะวันออกเฉียงใต้ สามารถพบได้ทั่วทุกภาคในประเทศไทย (ประไพรรัตน์ สีพลไกล, 2555) พญาสัตบรรณมีสรรพคุณทางยาหลายส่วน เช่น เปลือก ช่วยลดระดับน้ำตาลในเลือด รักษาโรคเบาหวาน ช่วยขับน้ำเหลืองเสีย และรักษาผดผื่นคัน ยาง ใช้พอกดับพิษต่าง ๆ รักษาแผลเน่าเปื่อย และแก้ปวดหู ใบ รักษาโรคเลือดออกตามไรฟัน หรือโรคลักปิดลักเปิด แก้ไข้ รักษาโรคระบบทางเดินหายใจเรื้อรัง ดอก ช่วยแก้โลหิตพิการ ไข้เหนือ และไข้ตัวร้อน เป็นต้น (ทวีวรรธน์ แดงมณี, 2548; อุฑารัตน์ ภู่ไพบูลย์, 2542) สำหรับสาระสำคัญที่พบในต้นพญาสัตบรรณ ได้แก่ อัลคาลอยด์ (Alkaloids) โดยเฉพาะกลุ่มอินโดลอัลคาลอยด์ (Indole alkaloids) ควิโนลีน (Quinoline) สเตอรอยด์ (Steroid) แทนนิน (Tannin) ฟีนอล (Phenol) เทอร์พีนอยด์ (Terpenoid) และซาโปนิน (Saponin) เป็นต้น (ประไพรัตน์ สีพลไกร, 2555; ศิริพร หมาดหล้า, 2560) นอกจากนี้ยังพบสารกลุ่มไตรเทอร์พีนอยด เชน ursolic acid, cycloeucalenol, betulin, betulinic acid และ oleanolic acid (Feng et al., 2013) สารกลุ่มฟลาโวนยอด์ เช่น kaempferol, quercetin และ isorhamnetin เป็นต้น (Hui et al., 2009) จากการศึกษาพบว่า สารสกัดเอทานอลจากใบของต้นพญาสัตบรรณสามารถลดอาการข้ออักเสบในสัตว์ทดลอง (Arulmozhi et al., 2011) สารสกัดเอทานอลจากใบของต้นพญาสัตบรรณสามารถลดระดับกลูโคสในเลือดไกลโคซิเลสฮีโมโกลบิน (glycosylated hemoglobin) และการเกิดเปอร์ออกซิเดชันของ

ไขมัน และมีผลให้น้ำหนักตัวของหนูทดลองเพิ่มขึ้น เพิ่มไกลโคเจนที่ตับและกล้ามเนื้อ และเพิ่มสภาวะของสารต้านออกซิเดชัน (Arulmozhi et al., 2010)

ในงานวิจัยนี้จึงสนใจที่จะศึกษาพฤกษเคมี ได้แก่ ปริมาณฟีนอลิกทั้งหมด ปริมาณฟลาโวนอยด์ทั้งหมด ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ และฤทธิ์ต้านแบคทีเรียจากสารสกัดหยาบจากใบและดอกของพญาสัตบรรณ ทั้งนี้เพื่อเป็นข้อมูลพื้นฐานของชุนชนในการประยุกต์ใช้เพื่อการพัฒนาใช้ประโยชน์ทางการแพทย์ และนำไปใช้เป็นสารประกอบในเครื่องสำอางบำรุงผิว ลดเลือนริ้วรอย และเพื่อเป็นข้อมูลทางวิทยาศาสตร์ที่ช่วยเพิ่มคุณค่าและสนับสนุนการนำพญาสัตบรรณไปใช้

วัตถุประสงค์ของการวิจัย

1. เพื่อศึกษาพฤกษเคมี ได้แก่ ปริมาณฟีนอลิกทั้งหมด และปริมาณฟลาโวนอยด์ทั้งหมด จากสารสกัดหยาบจากใบและดอกพญาสัตบรรณ
2. เพื่อศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระจากสารสกัดหยาบจากใบและดอกพญาสัตบรรณ
3. เพื่อศึกษาฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรียแกรมบวกและแกรมลบจากสารสกัดหยาบจากใบและดอกพญาสัตบรรณ

วิธีดำเนินการวิจัย

การเตรียมตัวอย่าง

พญาสัตบรรณที่ใช้ในงานวิจัยนี้ ได้แก่ ใบ และดอก เก็บในช่วงเดือนมกราคม 2566 จากจังหวัดปราจีนบุรี นำใบ และดอกพญาสัตบรรณมาล้างให้สะอาดด้วยน้ำ ผึ่งให้แห้ง หั่นเป็นชิ้นเล็ก แล้วนำไปอบด้วยตู้อบลมร้อน ที่อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 20 ชั่วโมง จนน้ำหนักคงที่ บดให้ละเอียดด้วยเครื่องบด นำแต่ละส่วนที่บดละเอียดมาชั่งให้ทราบน้ำหนักที่แน่นอน

การสกัดสารจากส่วนต่าง ๆ ของพญาสัตบรรณ

นำผงของใบ และดอกพญาสัตบรรณ มาจำนวนละ 500 กรัม นำมาสกัดด้วยตัวทำละลายเอทานอล 95 % ที่ปริมาตร 1 ลิตร ด้วยวิธีการแช่หมัก (Maceration) ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 7 วัน หลังจากนั้นทำการกรองเก็บสารละลาย และนำไประเหยด้วยเครื่องระเหยสารแบบหมุนภายใต้สุญญากาศ (Rotary evaporator) ที่อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส จะได้เป็นสารสกัดหยาบ ชั่งน้ำหนักของสารสกัดหยาบที่ได้และคำนวณร้อยละของสารสกัดหยาบแต่ละชนิด

การคำนวณร้อยละของสารสกัดหยาบ (%w/w) = (น้ำหนักสารสกัดหยาบ x100)/น้ำหนักแห้ง

การวิเคราะห์ปริมาณฟีนอลิกทั้งหมด (ดัดแปลงวิธีจาก Singleton et al., 1999)

เตรียมสารสกัดตัวอย่างให้มีความเข้มข้น 1.0 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร ปิเปตสารละลายสารสกัดมาอย่างละ 25 ไมโครลิตร เติมน้ำกลั่นปริมาตร 100 ไมโครลิตร และเติมสารละลาย Folin-ciocalteu ปริมาตร 30 ไมโครลิตร เขย่าให้เข้ากัน บ่มในที่มืดที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 6 นาที และเติมสารละลายโซเดียมคาร์บอเนต (7%w/v Na_2CO_3) ปริมาตร 250 ไมโครลิตร น้ำกลั่นปริมาตร 60 ไมโครลิตร เขย่าให้เข้ากันบ่มในที่มืดที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 90 นาที นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 765 นาโนเมตร ด้วยเครื่องสเปกโทรโฟโตมิเตอร์ (UV-Vis spectrophotometer) เตรียมสารละลายมาตรฐานกรดแกลลิกที่มีความเข้มข้นเป็น 0.1, 0.2, 0.3, 0.4 และ 0.5 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร ทำการปิเปตสารละลายมาตรฐานแต่ละความเข้มข้นมาอย่างละ 25 ไมโครลิตร น้ำกลั่นปริมาตร 100 ไมโครลิตร และเติมสารละลาย Folin-ciocalteu ปริมาตร 30 ไมโครลิตร เขย่าให้เข้ากัน บ่มในที่มืดที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 6 นาที และเติมสารละลายโซเดียมคาร์บอเนต (7% w/v Na_2CO_3) ปริมาตร 250 ไมโครลิตร น้ำกลั่นปริมาตร 60 ไมโครลิตร เขย่าให้เข้ากันบ่มในที่มืดที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 90 นาที นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 765 นาโนเมตร สำหรับการทดลองชุดควบคุมใช้น้ำกลั่น ทำการวิเคราะห์หาปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดในสารสกัดหยาบตัวอย่างโดยเทียบจากกราฟมาตรฐานของกรดแกลลิกในหน่วยมิลลิกรัมสมมูลของกรดแกลลิกต่อกรัมน้ำหนักสารสกัดแห้ง (mg GAE/g extract) แต่ละตัวอย่างทำการทดลอง 3 ซ้ำ

การวิเคราะห์ปริมาณฟลาโวนอยด์ทั้งหมด (ดัดแปลงวิธีจาก Saeed et al., 2012)

เตรียมสารสกัดตัวอย่างให้มีความเข้มข้น 1.0 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร ปิเปตสารละลายตัวอย่างมาอย่างละปริมาตร 100 ไมโครลิตร น้ำกลั่น 400 ไมโครลิตร เติมสารละลายโซเดียมไนไตรท์ (5% w/v $NaNO_2$) 30 ไมโครลิตร บ่มในที่มืด 6 นาที ที่อุณหภูมิห้อง เติมสารละลายอะลูมิเนียมไตรคลอไรด์ (10% w/v $AlCl_3$) ปริมาตร 30 ไมโครลิตร เขย่าให้เข้ากัน บ่มในที่มืดที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 5 นาที เติมสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ (1 M NaOH) ปริมาตร 200 ไมโครลิตร ปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นจนครบ 1 มิลลิลิตร บ่มในที่มืดที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 5 นาที นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 510 นาโนเมตร ด้วยเครื่องสเปกโทรโฟโตมิเตอร์ เตรียมสารละลายมาตรฐานเคอร์ซิติน (Quercetin) ให้มีความเข้มข้นเป็น 0.1, 0.2, 0.3, 0.4 และ 0.5 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร ทำการปิเปตสารละลายมาตรฐานแต่ละความเข้มข้นมาอย่างละปริมาตร 100 ไมโครลิตร น้ำกลั่น 400 ไมโครลิตร จากนั้นเติมสารละลายโซเดียมไนไตรท์ (5%w/v $NaNO_2$) 30 ไมโครลิตร บ่มในที่มืด 6 นาที ที่อุณหภูมิห้อง เติมสารละลายอะลูมิเนียมไตรคลอไรด์ (10%w/v $AlCl_3$) ปริมาตร 30 ไมโครลิตร เขย่าให้เข้ากัน บ่มในที่มืดที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 5 นาที เติมสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ (1 M NaOH) ปริมาตร 200 ไมโครลิตร ปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นจนครบ 1 มิลลิลิตร บ่มในที่มืดที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 5 นาที นำไป

วัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 510 นาโนเมตร ในหน่วยมิลลิกรัมสมมูลของเคอร์ซิติน ต่อกรัมน้ำหนักสารสกัดแห้ง (mg QE/g extract) แต่ละตัวอย่างทำการทดลอง 3 ซ้ำ

การทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ

การทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH (ดัดแปลงวิธีจาก Prommuak et al., 2008)

เตรียมสารละลายสารมาตรฐาน BHA (butylated hydroxyanisole) BHT (butylated hydroxytoluene) แอลฟา-โทโคฟิรอล (**α**-tocopherol) หรือสารสกัดหยาบตัวอย่างที่มีความเข้มข้น 50, 250, 500 และ 1,000 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร ปิเปตสารละลายมาตรฐานหรือสารสกัดที่มีความเข้มข้นต่าง ๆ ปริมาตร 50 ไมโครลิตร เติมสารละลาย DPPH $6x10^{-5}$ โมลาร์ ปริมาตร 5 มิลลิลิตร เขย่าให้เข้ากัน บ่มในที่มืดที่อุณหภูมิห้อง นาน 30 นาที วัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 516 นาโนเมตร โดยแต่ละตัวอย่างทำการทดลอง 3 ซ้ำ คำนวณหา % Radical scavenging จากสูตร

% Radical scavenging = [(Ac – As)/Ac] ×100

โดย Ac คือ ค่าการดูดกลืนแสงที่วัดได้ของสารละลาย DPPH

As คือ ค่าการดูดกลืนแสงที่วัดได้ของสารตัวอย่างผสมกับ DPPH

ค่าที่ได้มาคำนวณหาค่า Effective concentration (EC_{50}) หรือค่าความเข้มข้นของสารสกัดที่ทำให้สารอนุมูลอิสระลดลง 50% จากกราฟระหว่างความเข้มข้นของสารตัวอย่างกับ % Radical scavenging

การทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี ABTS decolorization scavenging effect (ดัดแปลงวิธีจาก Phansawan, 2013)

เตรียมสารละลาย ABTS ที่ความเข้มข้น 7 มิลลิโมลาร์ และสารละลาย Potassium persulfate ($K_2S_2O_8$) ที่ความเข้มข้น 2.45 มิลลิโมลาร์ ผสมสารละลาย ABTS และสารละลาย Potassium persulfate เก็บไว้ในที่มืดที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 12-16 ชั่วโมง จะได้สารละลาย ABTS radical หลังจากนั้นนำมาทำการเจือจาง ด้วยเอทานอล ให้มีค่าการดูดกลืนคลื่นแสง เท่ากับ 0.70 ± 0.02 ที่ความยาวคลื่นที่ 734 นาโนเมตร ทำการ เตรียมสารละลายตัวอย่างที่ความเข้มข้น 50, 250, 500 และ 1,000 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร นำสารละลายตัวอย่างที่เตรียมไว้แต่ละความเข้มข้นมาปริมาตร 100 ไมโครลิตร เติมสารละลาย ABTS ปริมาตร 10 มิลลิลิตร ตั้งทิ้งไว้ ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 10 นาที นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 734 นาโนเมตร ด้วยเครื่องสเปกโทรโฟโตมิเตอร์ และทำการเตรียมสารละลายสารมาตรฐาน BHA, BHT และ **α**-Tocopherol เหมือนสารตัวอย่าง โดยแต่ละตัวอย่างทำการทดลอง 3 ซ้ำ คำนวณหาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ ABTS โดยเปรียบค่าที่ได้กับกราฟมาตรฐานของ BHA, BHT และ **α**-Tocopherol

การทดสอบฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรียของสารสกัดหยาบ

การทดสอบฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรียของสารสกัดหยาบโดยวิธีการ Agar well diffusion method (ดัดแปลงวิธีการของ Balouiri et al., 2016; Bagul, & Sivakumar, 2016)

โดยนำสารสกัดตัวอย่างมาทดสอบทำการทดสอบฤทธิ์ยับยั้งเชื้อแบคทีเรียก่อโรคแกรมบวกได้แก่ *Staphylococcus aureus* TISTR746, *Bacillus cereus* TISTR 1449 และแกรมลบคือ *Salmonella typhimurium* TISTR1472 นำเชื้อแบคทีเรียเลี้ยงในอาหาร Mueller Hinton broth ทำแกรมบวกได้แก่ บ่มเชื้อ 24 ชั่วโมง และปรับความเข้มข้นของเชื้อให้ได้ประมาณ 10^8 cfu/mL โดยทำการเทียบกับ McFarland standard #0.5 ทำการกระจายเชื้อแบคทีเรียบนอาหาร Mueller Hinton agar เจาะหลุมโดยใช้ Cork borer ที่มีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 5 มิลลิเมตร และนำสารสกัดตัวอย่างแต่ละตัวอย่างที่ความเข้มข้น 10 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ใส่ในจานอาหารปริมาตร 100 ไมโครลิตร นำไปเลี้ยงเชื้อบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 18-24 ชั่วโมง และทำการวัดเส้นผ่านศูนย์กลางของบริเวณใส (Zone of inhibition) ในหน่วยมิลลิเมตร เปรียบเทียบกับ DMSO ความเข้มข้นที่ไม่แสดงฤทธิ์ยับยั้งแบคทีเรีย และสารปฏิชีวนะมาตรฐานที่ใช้ทดสอบได้แก่ Streptomycin และ Tetracycline ที่ความเข้มข้น 10 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร ทำการประเมินผลการยับยั้งของสารสกัด ทำการทดลอง 3 ซ้ำ

การศึกษาความเข้มข้นข้นต่ำสุดในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย (Minimum Inhibition Concentration: MIC) (โดยวิธี Tube dilution method (Balouiri et al., 2016))

นำสารสกัดแต่ละตัวอย่างแต่ละความเข้มข้น (1.562, 3.125, 6.25, 12.5, 25 และ 50 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร) ด้วยอาหาร Mueller Hinton broth เติมเชื้อ *Staphylococcus aureus* TISTR746 *Salmonella typhimurium* TISTR1472 *Bacillus cereus* TISTR1449 ที่ความเข้มข้นร้อยละ 1 (v/v) บ่มเชื้อที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส 24 ชั่วโมง นำมาตรวจสอบผลในการยับยั้ง โดยใช้เข็มเขี่ยเชื้อจากหลอดอาหารที่ผ่านการบ่มเชื้อไปขีดเชื้อแบบง่ายลงบนผิวหน้าอาหารแข็งและบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง นำมาตรวจสอบการเจริญ โดยค่า MIC คือค่าความเข้มข้นต่ำสุดของสารสกัดที่ไม่ปรากฏการเจริญของเชื้อบนจานอาหาร ทำการทดลอง 3 ซ้ำ

การศึกษาค่าความเข้มข้นที่สามารถฆ่าเชื้อแบคทีเรียได้ (Minimal bactericidal concentration: MBC) (ด้วยวิธี Plate dilution ดัดแปลงวิธีการของ Bagul, & Sivakumar, 2016; Jorgensen, & Ferraro, 2009)

นำสารสกัดตัวอย่างมาทำการเจือจางลงในอาหาร Mueller Hinton broth เพาะเชื้อแบคทีเรียโดยบ่มเชื้อที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง และนำมาตรวจการทำลายเชื้อทดสอบดูการกระจายเชื้อบนผิวอาหาร Mueller Hinton agar ในปริมาตร 100 ไมโครลิตร บ่มเชื้อที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส 24 ชั่วโมง ตรวจสอบการเจริญของเชื้อเพื่อตรวจสอบฤทธิ์ทำลายเชื้อแบคทีเรีย อ่านค่า MBC โดยค่า MBC ที่อ่านได้คือ ค่าความเข้มข้นต่ำสุดของสารสกัดที่ทำให้ไม่ปรากฏการเจริญของเชื้อในจานอาหารที่ทดสอบ ทั้งนี้ทำการทดลอง 3 ซ้ำ

ผลการวิจัยและอภิปรายผล

ผลการสกัดสารจากใบและดอกพญาสัตบรรณ

เมื่อนำใบและดอกพญาสัตบรรณมาอบแห้ง ทำการบดให้ละเอียด สกัดด้วยตัวทำละลายเอทานอล 95 % เป็นเวลา 7 วัน หลังจากนั้นทำการกรองและระเหยแห้งด้วยเครื่องระเหยสารแบบหมุนภายใต้สุญญากาศ (Rotary evaporator) จะได้เป็นส่วนสกัดหยาบที่มีลักษณะข้นเหนียว พบว่า สารสกัดที่สกัดด้วยตัวทำละลายเอทานอล จะได้เป็นส่วนสกัดหยาบที่มีลักษณะข้นเหนียว น้ำหนักและร้อยละของสารสกัดหยาบ ดังตารางที่ 1

ตารางที่ 1 น้ำหนักและร้อยละของสารสกัดหยาบจากใบ และดอกพญาสัตบรรณ

ชนิดของสารสกัดเอทานอล	น้ำหนักสารสกัดหยาบ (g)	ร้อยละสารสกัดหยาบ
ใบ	30.21	6.04
ดอก	35.08	7.01

จากตารางที่ 1 เมื่อนำใบและดอกของพญาสัตบรรณ ไปทำการสกัดด้วยตัวทำละลายเอทานอล พบว่า สารสกัดหยาบจากดอกพญาสัตบรรณ มีน้ำหนักสารสกัดหยาบสูงที่สุด (35.08 กรัม) คิดเป็นร้อยละสารสกัดหยาบเท่ากับ 7.01 รองลงมา คือ สารพญาสัตบรรณ สกัดหยาบจากใบ (30.21 กรัม) คิดเป็นร้อยละสารสกัดหยาบเท่ากับ 6.04

ผลการวิเคราะห์ปริมาณฟีนอลิกทั้งหมด และปริมาณฟลาโวนอยด์ทั้งหมด

ผลการวิเคราะห์หาปริมาณฟีนอลิกทั้งหมด พบว่า สารสกัดหยาบจากใบพญาสัตบรรณมีปริมาณฟลาโวนอยด์สูงที่สุด (25.53 ± 0.52 mg GAE /g) รองลงมา คือ สารสกัดหยาบดอกของพญาสัตบรรณ (20.34 ± 1.01 mg GAE /g) การวิเคราะห์หาปริมาณฟลาโวนอยด์ทั้งหมด พบว่า สารสกัดหยาบจากใบพญาสัตบรรณมีปริมาณฟลาโวนอยด์สูงที่สุด (18.21 ± 1.07 mg QE/g) รองลงมา คือ สารสกัดหยาบจากดอกพญาสัตบรรณ (13.19 ± 1.37 mg QE/g) ดังตารางที่ 2

ตารางที่ 2 ปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดและฟลาโวนอยด์ทั้งหมดจาของสารสกัดหยาบจากใบและดอกพญาสัตบรรณ

สารสกัดหยาบ	ปริมาณฟีนอลิกทั้งหมด (mg GAE/g)	ปริมาณฟลาโวนอยด์ทั้งหมด (mg QE/g)
ใบ	25.53 ± 0.52	18.21 ± 1.07
ดอก	20.34 ± 1.01	13.19 ± 1.37

จากผลการวิเคราะห์ปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดและฟลาโวนอยด์ทั้งหมดของสารสกัดหยาบจากใบและดอกพญาสัตบรรณ พบว่า สารสกัดหยาบจากใบพญาสัตบรรณมีปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดและฟลาโวนอยด์ทั้งหมด

สูงกว่าสารสกัดหยาบจากดอกพญาสัตบรรณ และจากการศึกษางานวิจัยของ ผาณตา เอี้ยวซิโป และคณะ (2017) ที่ตรวจพบสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดจากสารสกัดหยาบจากใบพญาสัตบรรณน้ำและใบพญาสัตบรรณทรายที่ทำการสกัดด้วยเอทิลแอซิเตด เฮกเซน และน้ำ และ จักรพงษ์ กาวิวงศ์ และคณะ (2563) ที่พบว่าสารสกัดหยาบน้ำยางพญาสัตบรรณจากเอทานอลมีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดสูงที่สุด (20.9±0.19 mg GAE/g) และสอดคล้องกับผลการทดลองของ Deepak & Ashish (2013) ที่พบว่า สารสกัดหยาบจากเอทานอลในส่วนของใบ ผล และเปลือกของพญาสัตบรรณมีปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดเท่ากับ 49.66±1.52 QE/g 18.68±1.53 QE/g และ 17.0±2.0 QE/g ตามลำดับ และสารสกัดหยาบจากเอทานอลในส่วนของใบ ผล และเปลือกมีปริมาณฟลาโวนอยด์ทั้งหมดเท่ากับ 97.33±1.52 mg GAE/g 15.86±01.64 mg GAE/g และ 11±1.0 mg GAE/g ตามลำดับ และจากการทดลองเมื่อทำการเปรียบเทียบผลการทดลองงานวิจัยนี้กับของ Deepak & Ashish (2013) พบว่า ปริมาณฟีนอลิกทั้งหมด และปริมาณฟลาโวนอยด์ทั้งหมดของสารสกัดหยาบจากใบพญาสัตบรรณมีปริมาณน้อยกว่า ทั้งนี้อาจเนื่องมากจากสภาพภูมิประเทศ ภูมิอากาศที่ปลูกต้นพญาสัตบรรณส่งผลให้ปริมาณสารพฤกษเคมีมีปริมาณที่แตกต่างกัน

การวิเคราะห์ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ

ในการวิเคราะห์ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ ในการวิจัยนี้ได้ทำการเลือกใช้การทดสอบด้วยวิธี DPPH assay และ ABTS assay

การวิเคราะห์ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH assay

ผลการวิเคราะห์ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วย DPPH radical ของสารสกัดหยาบจากใบ และดอกพญาสัตบรรณ โดยใช้สารละลายมาตรฐาน BHA, BHT และ **α**-Tocopherol ผลการทดลองดังตารางที่ 3 พบว่าสารสกัดหยาบจากใบพญาสัตบรรณมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระสูงที่สุด โดยมีค่า EC_{50} เท่ากับ 8.15 ± 0.27 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร และสารสกัดหยาบจากดอกพญาสัตบรรณ มีค่า EC_{50} เท่ากับ 10.09 ± 0.52 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร เมื่อเทียบกับสารละลายสารมาตรฐาน BHA, BHT และ **α**-Tocopherol โดยมีค่า EC_{50} เท่ากับ 13.21 ± 1.37 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร 18.34 ± 1.89 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร และ 17.08 ± 1.09 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร ตามลำดับ

การวิเคราะห์ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี ABTS assay

การทดสอบด้วยวิธี ABTS assay สารสกัดหยาบจากใบ และดอกพญาสัตบรรณ โดยใช้สารละลายมาตรฐาน BHA, BHT และ **α**-Tocopherol ผลการทดลองดังตารางที่ 3 พบว่า สารสกัดหยาบจากใบพญาสัตบรรณ มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระสูงที่สุด มีค่า EC_{50} เท่ากับ 7.35 ± 1.78 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร และสารสกัดหยาบจากดอกพญาสัตบรรณมีค่า EC_{50} เท่ากับ 9.17 ± 1.52 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร เมื่อเทียบกับสารละลายมาตรฐาน BHA, BHT และ **α**-Tocopherol โดยมีค่า EC_{50} เท่ากับ 11.22 ± 1.38 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร 10.02 ± 1.45 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร และ 9.23 ± 1.11 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ

จากผลการทดสอบความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระผ่านกลไกการให้อะตอมไฮโดรเจนของสารสกัดถูกทดสอบด้วยวิธี DPPH radical scavenging assay และ ABTS assay สารสกัดหยาบจากใบของพญาสัตบรรณมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระสูงที่สุด และจากการศึกษางานวิจัยของผาณตา เอี้ยวชิโป และคณะ (2017) พบว่า สารสกัดใบพญาสัตบรรณน้ำที่ทำการสกัดด้วยเอทิลแอซีเตดมีฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระสามารถกำจัดอนุมูล DPPH ได้ดี มีค่า EC_{50} = 0.55 ± 0.03 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร และรีดิวซ์ Fe^{3+} ได้ดีเท่ากับ 2.08 ± 0.42 มิลลิกรัมวิตามินซีสมมูล/กรัมของส่วนสกัด ตามลำดับ

ตารางที่ 3 ฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดหยาบจากใบ และดอกของพญาสัตบรรณ

สาร	ฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระ	
	DPPH assay EC_{50} (mg/ml)	ABTS assay EC_{50} (mg/ml)
สารมาตรฐาน BHT	13.21 ± 1.37	11.22 ± 1.38
สารมาตรฐาน BHA	18.34 ± 1.89	10.02 ± 1.45
สารมาตรฐาน α-Tocopherol	17.08 ± 1.09	9.23 ± 1.11
สารสกัดหยาบจากใบพญาสัตบรรณ	8.15 ± 0.27	7.35 ± 1.78
สารสกัดหยาบจากดอกพญาสัตบรรณ	10.09 ± 0.52	9.17 ± 1.52

ผลการทดสอบฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรียของสารสกัดหยาบจากใบ และดอกของพญาสัตบรรณ

ผลการทดสอบฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรียของสารสกัดหยาบจากใบ และดอกของพญาสัตบรรณที่สกัดด้วยตัวทำละลายเอทานอล ด้วยวิธี agar well diffusion ดังตารางที่ 4 พบว่า สารสกัดหยาบจากใบ และดอกพญาสัตบรรณมีฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรีย 3 ชนิด คือ *S. aureus* TISTR746 *S. typhimurium* TISTR1472 และ *B. cereus* TISTR1449 ซึ่งแบคทีเรียเหล่านี้เป็นแบคทีเรียที่ก่อโรคเกี่ยวกับอาหารเป็นพิษและโรคท้องร่วง โดยสารสกัดหยาบจากใบของพญาสัตบรรณสามารถต้านเชื้อ *S. aureus* TISTR746 ได้ดีมีค่าวงใสมากที่สุดเท่ากับ 7.11 ± 1.27 มิลลิเมตร รองลงมา คือ *B. cereus* TISTR1449 และ *S. typhimurium* TISTR1472 โดยมีค่าวงใส เท่ากับ 5.89 ± 1.34 มิลลิเมตร และ 4.11 ± 1.53 มิลลิเมตร ตามลำดับ และสารสกัดหยาบจากดอกพญาสัตบรรณสามารถต้านเชื้อ *S. aureus* TISTR746 ได้ดีมีค่าวงใสมากที่สุด เท่ากับ 5.64 ± 0.45 มิลลิเมตร รองลงมาคือ *B. cereus* TISTR1449 และ *S. typhimurium* TISTR1472 โดยมีค่าวงใส เท่ากับ 4.46 ± 1.09 มิลลิเมตร และ 3.50 ± 1.16 มิลลิเมตร ตามลำดับ เมื่อเทียบกับสารปฏิชีวนะมาตรฐาน Streptomycin และ Tetracycline

ตารางที่ 4 ผลการทดสอบฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรียของสารสกัดหยาบจากใบ และดอกพญาสัตบรรณ

สาร	ผลฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรียของสารสกัด (Inhibition zone, mm± SD)		
	S. aureus TISTR746	*S. typhimurium* TISTR1472	*B. cereus* TISTR1449
สารมาตรฐาน Streptomycin	12.56 ± 0.49	6.40 ± 1.67	7.35 ± 1.29
สารมาตรฐาน Tetracycline	10.23 ± 1.56	5.56 ± 1.03	6.01 ± 1.59
สารสกัดหยาบจากใบพญาสัตบรรณ	7.11 ± 1.27	4.11 ± 1.53	5.89 ± 1.34
สารสกัดหยาบจากดอกพญาสัตบรรณ	5.64 ± 0.45	3.50 ± 1.16	4.46 ± 1.09

ตารางที่ 5 ค่า Minimal inhibitory concentration (MIC) และค่า Minimal bactericidal concentration (MBC) ของสารสกัดหยาบจากใบ และดอกของพญาสัตบรรณ

สารสกัดหยาบจากส่วนต่างๆ ของพญาสัตบรรณ	*S. aureus* TISTR746		*S. typhimurium* TISTR1472		*B. cereus* TISTR1449	
	MIC (mg/ml)	MBC (mg/ml)	MIC (mg/ml)	MBC (mg/ml)	MIC (mg/ml)	MBC (mg/ml)
ดอก	25	50	25	50	25	50
ใบ	25	50	25	50	25	50

ผลการทดลองเปรียบเทียบฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรียของสารสกัดหยาบจากใบ และดอกของพญาสัตบรรณ โดยเชื้อแบคทีเรีย ได้แก่ *S. aureus* TISTR746 *S. typhimurium* TISTR1472 และ *B. cereus* TISTR1449 ทำการเทียบกับยาปฏิชีวนะมาตรฐานได้แก่ Streptomycin และ Tetracycline พบว่า สารสกัดหยาบจากใบและดอกพญาสัตบรรณมีฤทธิ์ในการต้านเชื้อได้ดี โดยสามารถต้านเชื้อแบคทีเรียและสามารถต้านการเจริญของ *S. aureus* TISTR746 *S. typhimurium* TISTR1472 และ *B. cereus* TISTR1449 ได้อย่างสมบูรณ์โดยมีค่า MIC ของสารสกัดต่อเชื้อแบคทีเรียทั้งหมดดังตารางที่ 5 อยู่ที่ 25-50 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร และสารสกัดหยาบจากใบพญาสัตบรรณมีการต้านเชื้อแบคทีเรียได้ดี โดยมีค่า MIC ของสารสกัดอยู่ที่ 25 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร และเมื่อทำการหาค่า MBC ที่สามารถฆ่าเชื้อ *S. aureus* TISTR746 *S. typhimurium* TISTR1472 และ *B. cereus* TISTR1449 พบว่าสารสกัดหยาบใบและดอกพญาสัตบรรณที่ความเข้มข้น 50 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร สามารถฆ่าเชื้อ *S. aureus* TISTR746 *S. typhimurium* TISTR1472 และ *B. cereus* TISTR1449 ได้ ซึ่งผลจากทดลองแสดงให้เห็นว่า สารสกัดหยาบจากใบและดอกพญาสัตบรรณสามารถที่จะต้านและฆ่าเชื้อแบคทีเรียได้ ซึ่งฤทธิ์นี้จะแปรผันตรงกับปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดที่พบในสารสกัด แสดงให้เห็นว่า สารประกอบ

ฟีนอลิกน่าจะเป็นกลุ่มสารที่สามารถออกฤทธิ์ในการต้านเชื้อ เช่นเดียวกันกับที่เคยมีรายงานถึงฤทธิ์ในการต้านแบคทีเรียก่อโรค (Maddox et al.,2010) สอดคล้องกับผาณตา เอี้ยวชิโป และคณะ (2017) ที่พบว่าสารสกัดใบพญาสัตบรรณน้ำที่สกัดด้วยเอทิลแอซีเตด มีฤทธิ์ยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย *Xanthomonas campestris* pv. *Vesicatoria* ได้ดี นอกจากนี้ยังพบว่า สารสกัดจากใบพญาสัตบรรณที่ทำการสกัดด้วยน้ำสามารถที่จะต้านเชื้อแบคทีเรีย ได้แก่ *Staphylococcus aureus* ATCC 25922, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, *Enterococcus faecalis* ATCC 10541, *Klebsiello pneumoniae* ATCC 13883, *Providencia smaitii* ATCC 29916, and *Escherichia coli* ATCC 8739 และต้านเชื้อรา ได้แก่ *Microsporum gypseum* CBS 118893, *Epidermophyton floccosum* CBS 56694, และ *Trichophytom mentagrophytes* ATCC 4439 โดยสารสกัดสามารถต้านเชื้อแบคทีเรียชนิด *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 ได้ดีที่สุด มีค่า MIC อยู่ที่ 3.13 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร และยับยั้งเชื้อราชนิด *Epidermophyton floccosum* CBS 566.9 มีค่า MIC อยู่ที่ 31.25 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร และสอดคล้องกับผลการทดลองของ Deepak & Ashish (2013). ที่พบว่าสารสกัดจากใบ ผล เปลือกของพญาสัตบรรณสามารถต้านแบคทีเรียแกรมบวกและแกรกมลบได้ โดยสารสกัดจากใบที่ความเข้มข้น 100 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร สามารถยับยั้ง *B. subtilis* ได้ดีโดยมีโดยมีค่าวงใส เท่ากับ 21 มิลลิเมตร รองลงมา คือ *S. aureus E.coli และ P. aeruginosa* จากผลการทดลองที่ได้จะพบว่าสารสกัดทั้งใบและดอกมีฤทธิ์ในการต้านเชื้อแบคทีเรียที่ต่างกันอาจจะเนื่องมาจากปริมาณของสารฟีนอลิกทั้งหมดที่พบในสารสกัดใบและดอกมีความแตกต่างกัน (Critchfield et al., 1996) เนื่องจากสารประกอบฟีนอลิกสามารถต้านเชื้อจุลินทรีย์ที่ก่อให้เกิดโรคได้ (Lima et al., 2019)

สรุป

จากการศึกษาสารพฤกษเคมี ได้แก่ ปริมาณฟีนอลิกทั้งหมด และปริมาณฟลาโวนอยด์ทั้งหมด และศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระและฤทธิ์ต้านแบคทีเรียจากสารสกัดหยาบจากใบและดอกพญาสัตบรรณ พบว่าสารสกัดหยาบจากใบของพญาสัตบรรณมีปริมาณฟีนอลิกทั้งหมด และปริมาณฟลาโวนอยด์ทั้งหมดสูงกว่าสารสกัดหยาบจากดอกพญาสัตบรรณ เมื่อศึกษาประสิทธิภาพฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH และ ABTS สารสกัดหยาบจากใบพญาสัตบรรณมีประสิทธิภาพฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระสูงที่สุด เมื่อเทียบกับสารมาตรฐาน BHA, BHT และ **α**-Tocopherol และสารสกัดหยาบจากใบและดอกของพญาสัตบรรณสามารถต้านเชื้อแบคทีเรียได้แก่ *S. aureus* TISTR746 *S. typhimurium* TISTR1472 และ *B. cereus* TISTR1449 เมื่อเทียบกับยาปฏิชีวนะมาตรฐาน Streptomycin และ Tetracycline จากผลการทดลองสามารถนำไปเป็นข้อมูลทางวิทยาศาสตร์ที่ช่วยเพิ่มคุณค่าและสนับสนุนการนำพญาสัตบรรณไปใช้ ประโยชน์โดยสามารถนำไปใช้ในการเป็นสารประกอบในเครื่องสำอางบำรุงผิว ลดเลือนริ้วรอย และในการพัฒนาเพื่อใช้ประโยชน์ทางการแพทย์และเกษตรกรรมต่อไป

ข้อเสนอแนะ

ในการวิจัยต่อไปควรแยกสารให้บริสุทธิ์และทำการวิเคราะห์หมู่ฟังก์ชันของสารสกัดที่ได้เพื่อค้นหาสารที่มีฤทธิ์ทางชีวภาพ และนำสารสกัดมาประยุกต์ใช้เป็นผลิตภัณฑ์เพื่อนำไปใช้ประโยชน์ทางการแพทย์ได้

เอกสารอ้างอิง

จักรพงษ์ กาวิวงศ์, อรุณี อินทร์จาด, อรวิภา เรียนกระศิลป์, กฤติญา กมลคร, พรหมพร ศรีสร้อยทองสุก, ดำรงศักดิ์ เป็กทอง, และสุภาวดี พาหิระ. (2563). **องค์ประกอบทางเคมีและฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดจากน้ำยางของพญาสัตบรรณ**. งานประชุมวิชาการระดับชาติครั้งที่ 12, มหาวิทยาลัยราชภัฏนครปฐม มหาวิทยาลัยราชภัฏนครปฐม จังหวัดนครปฐม.

ทวีวรรธน์ แดงมณี. (2548). **ผลของการใส่ปุ๋ยต่อการเติบโตของไม้ตีนเป็ดในระยะปลูกต่างๆ กัน จังหวัดตราด.** หลักสูตรวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

ประไพรัตน์ สีพลไกร. (2555). สารอินโดลอัลคาลอยด์ และฤทธิ์ทางชีวภาพของต้นพญาสัตบรรณ. **วารสารวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยอุบลราชธานี**, 14(1), 54-64.

ผาณตา เอี้ยวซิโป, แวววลี โชคแสวงการ, ชฎาพร พรมแดน, และพิมพ์หทัย นิลเกษม. (2017). ฤทธิ์ต้านแบคทีเรียและต้านอนุมูลอิสระจากสารสกัดใบตีนเป็ดน้ำและใบตีนเป็ดทราย**. วารสารวิทยาศาสตร์บูรพา ปีที่ 22 (ฉบับพิเศษ) การประชุมวิชาการระดับชาติ "วิทยาศาสตร์วิจัย ครั้งที่ 9**, 129-140.

ศิริพร หมาดหล้า, และพจนพร ไกรดิษฐ์. (2560). สารอัลคาลอยด์จากพืช และกลไกการออกฤทธิ์ระดับโมเลกุลในการต้านมะเร็ง. **Songklanagarind Medical Journal**, 35(1), 83-94.

อุฑารัตน์ ภู่ไพบูลย์. (2542). **ไม้ตีนเป็ด ใช้ทำดินสอดำ**. กรุงเทพฯ : กรมป่าไม้.

Arulmozhi, S., Mazumder, P.M., Lohidasan, S., & Thakurdesai, P. (2010). Antidiabetic and antihyperlipidermic activity of leaves of Alstonia scholaris Linn. R.Br. **European Journal of Integrative Medicine**, *2*, 23-32.

Arulmozhi, S., Mazumder, P.M., Sathiyanarayanan, L., & Ashok, R. (2011). Anti-arthritic and antioxidant activity of leaves of *Alstonia scholaris* Linn. R.Br. **European Journal of Integrative Medicine**, 3, 83-90.

Bagul, U.S., & Sivakumar, S. M. (2016). Antibiotic susceptibility testing: a review on current practices. **International Journal of Pharmaceutics**, 6(3), 11-17.

Balouiri, M., Sadiki, M., & Ibnsouda, K.S. (2016). Methods for in vitro evaluating antimicrobial activity: a review. **Journal of Pharmaceutical Analysis**, 2, 71-79.

Critchfield, J.W., Butera, S.T., & Folks, T.M. (1996). Inhibition of HIV activation in latently infected cellsby flavonoid compounds**. AIDS Research and Human Retroviruses**, 12(1), 39-46.

Deepak, G., & Ashish K.G. (2013). Study on Phytochemical Composition, Antibacterial and Antioxidant Properties of Different Parts of *Alstonia scholaris* Linn. **Advanced Pharmaceutical Bulletin**, 3(2), 379-384.

Feng, L., Yuan, Y., Liu, X., Gu, J., Zhang, H., & Wang, Y. (2013). A Combination of Alkaloids and Triterpenes of *Alstonia scholaris* (Linn.) R. Br. Leaves Enhances Immunomodulatory Activity in C57BL/6 Mice and Induces Apoptosis in the A549 Cell Line. **Molecules***,* 18(11), 13920-13939

Hui, T., Sun, Y., Zhu, L., Guo, W., & Rao, G. (2009). Flavonoids in Leaves of *Alstonia scholaris*. **Zhongguo Zhong Yao Za Zhi,** 34 (9), 1111-1113.

Jorgensen, J.H., & Ferraro, M. J. (2009). Antimicrobial susceptibility testing: a review of general principles and contemporary practices. **Clinical Infectious Diseases**, 49, 1749-1755.

Lima, M.C., Paiva de Sousa, C., Fernandez-Prada, C., Harel, J., Dubreuil, J.D., & de Souza E.L. (2019). A review of the current evidence of fruit phenolic compounds as potential antimicrobials against pathogenic bacteria. **Microbial Pathogenesis***,* 130, 259-270.

Phansawan B. (2013). Free radicals, Antioxidants and antioxidant activity determination. **Journal of Science & Technology,** 21(3), 275–286.

Prommuak, C., D-Eknamkul, W., & Shotipruk, A. (2008). Extraction of flavonoids and carotenoids from Thai silk waste and antioxidant activity of extract. **Separation and Purification Technology***,* 62, 444-448.

Saeed, N., Khan, M.R., & Shabbir, M. (2012). Antioxidant activity, total phenolic and total flavonoid contents of whole plant extracts *Torilis leptophyllaL*. **BMC Complementary and Alternative Medicine***,* 12(221), 1-12.

Singleton, V.L., Orthofer, R., & Lamuela-Raventos, R.M. (1999). Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of Folin-Ciocalteu reagent. **Methods in Enzymology**, 299, 152-178.

Winnie, C.M., Isabel, N.W., & Josphat, C.M. (2019). Antibacterial saponins from the leaves of *Polyscias fulva* (Araliaceae). **African Journal of Biotechnology**, 18(19), 390-398.